

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

**ΘΕΜΑ:** ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΩΝ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ

**ΜΑΘΗΜΑ :** ΒΙΟΛΟΓΙΑ

**ΤΑΞΗ :** Β' Λυκείου

- **ΣΤΟΧΟΙ:** Να γνωρίσουν οι μαθητές μεθόδους εκχύλισης.
- Να κατανοήσουν τις αρχές της χρωματογραφίας.
- Να αποκτήσουν δεξιότητες χρήσης εργαστηριακών οργάνων

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Στο φυτικό κύτταρο η φωτεινή ακτινοβολία δεσμεύεται από τις Φωτοσυνθετικές Χρωστικές. Αυτές βρίσκονται μέσα στα *grana* των Χλωροπλαστών και ανήκουν σε 2 είδη, τις Χλωροφύλλες και τα Καροτενοειδή. Οι Χλωροφύλλες είναι πολύπλοκες οργανικές ενώσεις που φέρουν ένα κεντρικό άτομο Μαγνησίου (Mg). Αυτές απορροφούν κυρίως την μπλε και ερυθρή ακτινοβολία και ανακλούν την πράσινη, δίνοντας στα φυτά το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα. Τα καροτενοειδή απορροφούν κυρίως την μπλε ακτινοβολία και ανακλούν την κίτρινη και την πορτοκαλί. Και οι δύο κατηγορίες είναι διαλυτές σε οργανικούς διαλύτες.

Ο διαχωρισμός τους γίνεται με χρωματογραφία χάρτου, μια μέθοδο που βασίζεται στην διαφορετική ταχύτητα που μπορούν να κινηθούν ενώσεις ενός μίγματος λόγω διαφορετικής Σχετικής Μοριακής Μάζας (ΣΜΜ) και της διαλυτότητάς τους στον διαλύτη που χρησιμοποιείται κάθε φορά.

### Απαιτούμενα Όργανα και Υλικά:

Βιολογικό Υλικό : Φύλλα από φρέσκο Σπανάκι	
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Γουδί πορσελάνης ή Μπλέντερ.</li><li>➤ Ποτήρι ζέσεως 100-250 ml.</li><li>➤ Χωνί.</li><li>➤ Διηθητικό χαρτί.</li><li>➤ Ζυγός φαρμακευτικός</li><li>➤ Δοκιμαστικός σωλήνας μεγάλος, κατά προτίμηση pyrex με ανοικτά και τα 2 άκρα</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Αιθανόλη 95%</li><li>➤ CaCO<sub>3</sub></li><li>➤ Corn Flour ή αλεύρι</li></ul>

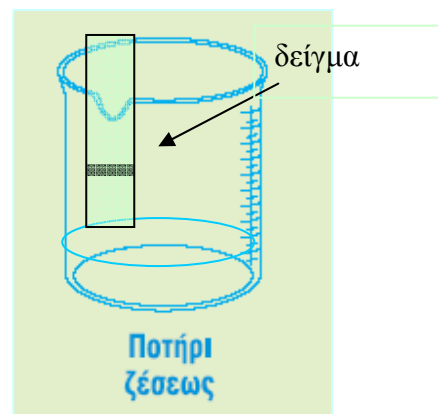
### Προετοιμασία/εκχείλιση.

Ζυγίζουμε περίπου 5 g. από τα φύλλα του σπανακιού αφού προηγουμένως έχουμε αφαιρέσει τα νεύρα.

Προσθέτουμε το υλικό στο γουδί (ή το Blender) με 20 ml αιθανόλης και περίπου 0,5 g CaCO<sub>3</sub>. Ομογενοποιούμε το υλικό και μετά το διηθούμε.

Χρωματογραφία Χάρτου.

Παίρνουμε από το διήθημα μια ποσότητα με ένα σταγονόμετρο και την απλώνουμε κάθετα σε μια ταινία από διηθητικό χαρτί, περίπου 3 εκ. από το κάτω άκρο (σχήμα 1). Μετά, τοποθετούμε άμεσα την ταινία σε ένα ποτήρι ζέσεως, στο οποίο προηγουμένως έχουμε



τοποθετήσει μικρή ποσότητα αιθανόλης , έτσι ώστε το κάτω μέρος της να είναι βυθισμένο στο υγρό κατά 2 εκατοστά. Αφήνουμε το υγρό να ανέβει σταδιακά στην ταινία, να παρασύρει και να διαχωρίσει το μίγμα των χρωστικών που έχουν εκχειλιστεί , μετά από περίπου 20 λεπτά.

### **Συμπληρωματική άσκηση.**

Μια άλλη επίδειξη της μεθόδου διαχωρισμού χρωστικών με βάση την χρωματογραφία , με απλά μέσα, είναι η παρακάτω:

Σε δύο ταινίες διηθητικού χαρτιού (όπως στην προηγούμενη άσκηση) και σε απόσταση περίπου 3 εκατ. από το κάτω άκρο, τραβάμε πολλές γραμμές με διαφορετικούς μαρκαδόρους, η μια πάνω στην άλλη. Βυθίζουμε τις ταινίες κάθε μια σε ποτήρια ζέσεως που το ένα έχει ποσότητα αιθανόλης αρκετή για να φτάσει το ύψος του υγρού στο 1 εκ.και το άλλο ποσότητα νερού. Καθώς η αιθανόλη και το νερό διαβρέχουν το διηθητικό χαρτί, παρασύρουν τα διαφορετικά χρώματα, και τα διαχωρίζουν, ανάλογα με την διαλυτότητά τους σε αυτά. Υπολογίζεται ότι καλός διαχωρισμός θα επιτευχθεί μετά από 15 περίπου λεπτά.

### **Χρωματογραφία στήλης**

Γεμίζουμε έναν μεγάλο δοκιμαστικό σωλήνα με corn flour αφήνοντας χώρο επάνω ~2 cm. Ρίχνουμε σε αυτόν ~2 ml εκχειλίσματος σπανακιού. Μόλις απορροφηθεί συμπληρώνουμε με καθαρό οινόπνευμα. Διατηρούμε τον σωλήνα καλυμμένο και αφήνουμε το δείγμα να κατέβει και να διαχωριστεί. Προσοχή στη ομογενή κατανομή του υλικού προσρόφησης.

### **Ερωτήσεις για την άσκηση:**

1. Τι χρώμα έχει το διάλυμα οίνοπνεύματος νερού?
2. Οι χρωστικές που διαχωρίστηκαν, τι χρώματα έχουν;
3. Μπορείτε να συσχετίσετε χρώμα και χρωστική;

### **Απαντήσεις:**

- 1.
- 2.
- 3.